

DE  
LA CAFÉINE

ET DE L'ACIDE CAFÉTANNIQUE

DANS LE CAFÉIER (COFFÉA ARABICA L.)

---

RECHERCHES MICROCHIMIQUES

---

THÈSE

Présentée et publiquement soutenue à l'École Supérieure de Pharmacie de Montpellier

Le 11 Juin 1895

Par Louis GAUCHER

Licencié ès-sciences physiques

Licencié ès-sciences naturelles

Chef des travaux d'Histoire naturelle et Matière médicale

à l'École supérieure de Pharmacie de Montpellier

POUR OBTENIR LE GRADE DE PHARMACIEN DE 1<sup>re</sup> CLASSE

---

MONTPELLIER

TYPOGRAPHIE ET LITHOGRAPHIE CHARLES BOEHM

ÉDITEUR DU NOUVEAU MONTPELLIER MÉDICAL

---

1895

# ÉCOLE SUPÉRIEURE DE PHARMACIE DE MONTPELLIER.

---

## PROFESSEURS

|                                      |   |                                                         |
|--------------------------------------|---|---------------------------------------------------------|
| MM. F. JEANJEAN (I. P. U) DIRECTEUR. | { | <i>Chimie analytique<br/>et Toxicologie.</i>            |
| L. COURCHET (I. P. U).....           | { | <i>Hist. natur. des médica-<br/>ments et Botanique.</i> |
| G. MASSOL (I. P. U).....             |   | <i>Physique.</i>                                        |
| F. GAY (I. P. U).....                |   | <i>Pharmacie.</i>                                       |
| C. ASTRE (A. U), chargé de cours...  |   | <i>Chimie générale.</i>                                 |

---

## COURS COMPLÉMENTAIRES ET AUXILIAIRES

|                                  |                                   |
|----------------------------------|-----------------------------------|
| MM. IMBERT, chargé du cours..... | <i>Chimie minérale.</i>           |
| JADIN, chargé du cours.....      | <i>Minéralogie et Hydrologie.</i> |
| PLANCHON, chargé du cours....    | <i>Matière médicale.</i>          |
| PLANCHON, agrégé.....            | <i>Organographie.</i>             |
| JADIN, agrégé.....               | <i>Pharmacie chimique.</i>        |

---

## AGRÉGÉS

MM. C. ASTRE (A. U).  
PLANCHON (A. U).  
JADIN (A. U).  
IMBERT (A. U), chargé des fonctions.

---

*Secrétaire* : H. GOT (I. P. U).

*Secrétaire honoraire* : F.-J. BLAISE (I. P. U).

---

NOTA.— L'École de Pharmacie n'accepte la responsabilité d'aucune des opinions émises par les candidats dans les Thèses ou Synthèses qui lui sont présentées.

A MA MÈRE, A MON PÈRE

*Faible témoignage de ma tendresse  
et de ma reconnaissance filiales.*

A Mon Oncle, le Docteur DUSSAUD

Pharmacien de 1<sup>re</sup> Classe

A Mon Cousin, JULES HILLERAU

Ingénieur-Directeur des Usines Métallurgiques d'Alapaesk (Russie).

*Hommage de ma vive affection.*

MEIS ET AMICIS

L. GAUCHER.

A Monsieur le Docteur E. HECKEL

Professeur à la Faculté des Sciences et à l'Ecole de Médecine  
et de Pharmacie de Marseille.

A Monsieur A. DOMERGUE

Professeur à l'Ecole de Médecine et de Pharmacie,  
Pharmacien en chef des Hôpitaux de Marseille.

A TOUS MES MAÎTRES

DE LA FACULTÉ DES SCIENCES ET DE L'ECOLE DE  
MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE MARSEILLE.

A Monsieur COURCHET

Professeur à l'Ecole Supérieure de Pharmacie de Montpellier

MON PRÉSIDENT DE THÈSE

*Hommage de ma profonde gratitude.*

L. GAUCHER.

*Avant de présenter ce modeste travail, qu'il nous soit permis de payer une dette de reconnaissance à tous les Maîtres qui nous ont aidé de leur savoir et de leurs conseils.*

*Et d'abord, à M. le D<sup>r</sup> Ed. Heckel, à M. Domergue, professeurs à l'Ecole de plein exercice de Marseille, pour la sollicitude qu'ils nous ont toujours témoignée au cours de nos études.*

*A MM. Courchet, Gay, Astre et Planchon, professeurs à l'Ecole supérieure de Pharmacie de Montpellier, qui ont mis, d'une façon si bienveillante à notre disposition, tout leur savoir et toute leur expérience pour nous faciliter la tâche entreprise.*

*Nous n'aurons garde d'oublier M. le professeur Bræmer, de la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Toulouse, dont l'obligeant concours nous a été on ne peut plus précieux.*

*A tous, le respectueux hommage de notre vive reconnaissance.*

L. GAUCHER.



DE

# LA CAFÉINE

## ET DE L'ACIDE CAFÉTANNIQUE

DANS LE CAFÉIER (*Coffea Arabica* L.)

RECHERCHES MICROCHIMIQUES

---

### AVANT-PROPOS

---

#### Plan et division du sujet.

La *caféine*, que ses propriétés excitantes ont mise depuis longtemps à l'ordre du jour, a été, certes, l'objet de bien des recherches, le sujet de travaux nombreux.

Toutefois, son histoire est loin d'être complète, et nous avons essayé, dans le présent travail, d'en fixer quelques points restés encore dans l'ombre.

Nous nous sommes tout d'abord occupé de déterminer sa température de fusion et sa température de vaporisation.

On sait combien est utile la connaissance de ces deux températures pour caractériser des corps qui, comme la *caféine*, ne

possèdent que des réactions très difficiles à obtenir dans certains cas.

Or, les plus grandes divergences existent, à ce sujet, entre les chiffres donnés par les auteurs. Il nous a donc paru intéressant de les étudier à nouveau et de les déterminer, si possible, d'une façon précise.

Mais notre étude a surtout porté sur la répartition de la caféine dans les diverses parties du caféier.

Dès 1843, Stenhouse annonçait que la caféine se trouve dans les feuilles et les tiges comme dans les fruits de ce précieux végétal. Nous avons repris cette question, et nous nous sommes efforcé, non seulement de rechercher le principe actif dans les divers organes, mais encore d'indiquer dans quelles régions de ces organes il siège de préférence.

Dans nos recherches, nous avons employé des réactifs, les uns déjà usités, les autres dont nous avons nous-même étudié l'action. Nous nous sommes servi des uns et des autres, d'après les procédés microchimiques.

L'*acide cafétannique* accompagnant presque toujours la caféine dans la plante, nous avons dû examiner aussi ses réactions particulières, pour les différencier de celles de la caféine, et nous avons été amené, par ce fait, à déterminer les régions où il se trouve localisé.

Dans ce mémoire, nous indiquerons donc, outre nos résultats concernant la caféine, ceux qui ont trait à la localisation de l'*acide cafétannique*.

Nous avons divisé notre travail en trois parties :

Dans la première, nous faisons un court historique de la caféine et de l'*acide cafétannique*.

La seconde partie comprend deux chapitres : l'un que nous consacrons à l'exposé des propriétés physico-chimiques de ces

deux composés; l'autre, qui vise plus spécialement la microchimie, contient la méthode d'étude que nous avons suivie et l'application de cette méthode aux réactions dont nous nous sommes servi.

Dans la troisième enfin, nous exposons nos recherches directes sur les différents organes du caféier, ainsi que les résultats auxquels nous croyons être arrivé.

---



## PREMIÈRE PARTIE

---

### Caféine.

En 1820, Runge <sup>1</sup> retira des graines de café un principe cristallin qu'il nomma *caféine* (*Koffein*).

Quelques années plus tard, Oudry <sup>2</sup> et Mulder isolaient du thé une substance également cristallisée qu'ils appelaient *théine*.

Lorsque, en 1838, Berzélius <sup>3</sup> en eut établi définitivement la composition centésimale, il émit l'opinion, et l'avenir lui a donné raison, que la *théine* d'Oudry et de Mulder et la *caféine* de Runge n'étaient qu'un seul et même produit.

Mulder <sup>4</sup>, un des premiers, se rangea à cet avis en faisant connaître, en outre, le peu d'affinité de la *caféine* pour les acides.

Presque en même temps, Carl Jobst <sup>5</sup>, de Stuttgard, établissait, à son tour, l'identité de ces deux substances.

Déjà en 1826, alors que Mulder retirait la *théine* des feuilles de thé, Théodore Martius <sup>6</sup> isolait du Guarana la *Guaranine*, et, quelques années plus tard, en 1840, Berthemot et Dechastelus <sup>7</sup>

<sup>1</sup> RUNGE ; Mater. z. Phytologie, 1821, tom. I, pag. 146.

<sup>2</sup> OUDRY ; Nouv. Bibliothèque m<sup>le</sup>, I, 1827, pag. 477.

<sup>3</sup> Jahresbericht, de Berzélius. XVII, 1838, pag. 302 ; XVIII, pag. 388.

<sup>4</sup> Archiv., 65, 1838, pag. 77.

<sup>5</sup> Id., 1838, pag. 86.

<sup>6</sup> MARTIUS ; Ann. der Chem. u. Pharm., tom. XXXVI, pag. 93.

<sup>7</sup> BERTHEMOT et DECHASTELUS ; Journ. de Pharm., tom. XXVI, pag. 518.

proclamaient l'identité de ce nouveau produit avec la théine et la caféine.

Trois ans après, Stenhouse <sup>1</sup> la retirait des feuilles de l'*Ilex Paraguayensis* ou Maté et annonçait qu'elle existe aussi bien dans les feuilles et les tiges que dans les graines du caféier.

Mais la patience des chercheurs ne devait pas se borner là. A une époque plus rapprochée de la nôtre, en 1865, nous voyons Attfield <sup>2</sup> constater, pour la première fois, la présence de la caféine dans la noix de Kola.

En 1883, Shimoyama <sup>3</sup> la rencontre dans la graine de la *Sterculia Platanifolia*. Lin (Japon).

A la même époque, MM. Ed. Heckel et Schlagdenhauffen <sup>4</sup> la découvrent et la dosent dans les gousses du cacao, où elle siège à côté de la théobromine des graines, et leur remarquable analyse de la noix de Kola leur montre que ces deux produits se trouvent également côte à côte dans ce végétal.

En dehors des plantes que nous venons de citer, la caféine a été également trouvée dans les feuilles d'une Nyctaginée brésilienne, la *neea Theifera*. OErsted (*Pisonia Cappivrosa*. Netto <sup>5</sup>).

Ses composés et ses réactions ont été successivement étudiés par Stenhouse <sup>6</sup>, Nicholson <sup>7</sup>, Peligot <sup>8</sup>, Rochleder <sup>9</sup>, Herzog <sup>10</sup>,

<sup>1</sup> STENHOUSE ; Ann. der Chem. u. Pharm., tom. XLV, pag. 366 ; tom. XLVI, pag. 227 ; *Ibid* (2), tom. III, pag. 244, et en extrait : Ann. de Chim. et de Phys., (3), 1854, tom. XLI, pag. 191.

<sup>2</sup> ATTFIELD ; Theingehalt der Kola-Nüsse, pag. 632.

<sup>3</sup> SHIMOYAMA ; Pharmacognosie der Pflanzenzeiches, pag. 647 (Flückiger).

<sup>4</sup> HECKEL et SCHLAGDENHAUFFEN ; Des kolas africains, pag. 203.

<sup>5</sup> SCHARLING ; Botan. Zeitung, 1869, pag. 217. On trouve un dessin de cette plante dans Engler et Prantl. Nyctaginées, Pisoniées, pag. 30, fig. 9.

<sup>6</sup> *Loc cit.*

<sup>7</sup> NICHOLSON ; Ann. der Chem. u. Pharm., tom. LXII, pag. 71.

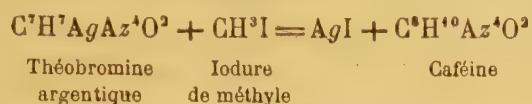
<sup>8</sup> PELIGOT ; Ann. de Chim. et de Phys. (3) tom. XI, pag. 68.

<sup>9</sup> ROCHLEDER ; Ann. de Chem. u. Pharm, tom. LXXI, pag. 1, et tom. LXXII, pag. 56-123.

<sup>10</sup> HERZOG ; *ibid.*, tom. XXVI, pag. 344 et tom. XXIX, pag. 171 ; Arch. für Pharm. (2) tom. XV, pag. 86.

qui, le premier, établit la nature alcaline de ce composé, alors que Mulder <sup>1</sup>, ainsi que nous l'avons déjà vu, constatait, dès 1838, son peu d'affinité pour les acides.

En 1861, Strecker <sup>2</sup> annonçait que la caféine n'était que le dérivé méthylé de la théobromine et en réalisait la synthèse en chauffant la théobromine argentique avec de l'iodure de méthyle.



Mais la véritable constitution chimique de la théobromine et de la caféine a donné lieu longtemps à de nombreuses controverses. Après Strecker, Rochleder <sup>3</sup> fit faire un grand pas à cette question. E. Fischer <sup>4</sup> enfin établit, dans de remarquables travaux, que ces deux composés alcaloïdes étaient des dérivés immédiats de l'acide urique.

Les liens étroits de parenté qui existent entre ces deux corps permettent de ne pas s'étonner de les voir se former côte à côte dans les mêmes plantes.

Ces deux dérivés paraissent d'ailleurs ne pas être les seuls à prendre naissance dans les mêmes organes végétaux.

Dans les feuilles de thé, par exemple, il existerait d'après Zöllner, Liebig <sup>5</sup> et Kössel <sup>6</sup>, non seulement de la caféine et de la théobromine, mais encore d'autres produits uriques tels que la xanthine et la théophylline isomère de la théobromine.

<sup>1</sup> MULDER ; Poggens Ann., tcm. XLIII, pag. 160.

<sup>2</sup> STRECKER ; Comptes rendus de l'Acad. des Sciences, tom. LII, pag. 1268 ; Ann. der Chim. u. Pharm., tom. CXVIII, pag. 151 (nouv. série, tom. XLII) ; Répert. de Chimie pure (1<sup>re</sup> série), tom. III, pag. 340 ; Ann. de Chim. et de Phys. (3) tom. LXII, pag. 355.

<sup>3</sup> Loc. cit.

<sup>4</sup> FISCHER ; Bericht über die Fortschritte der chem. und verwandter theile anderer Wissenschaften, 1882. Constitution des Cofféin, pag. 1087.

<sup>5</sup> Jahresb. 1871, pag. 130, des Annales, pag. 158-180, 1871.

<sup>6</sup> Berichte ; 1885, pag. 79-1930 ; 1888, pag. 2164 ; 1890, pag. 225.

### Acide cafétannique<sup>1</sup>.

L'acide *cafétannique* (*acide chlorogénique* de Payen), longtemps confondu avec l'*acide caféique*, paraît avoir été, tout d'abord, remarqué par Seguin<sup>2</sup>, qui appelait *principe amer* ce que Payen a démontré plus tard être un véritable sel (*sel naturel du café*), résultant de la combinaison de la caféine et de l'acide cafétannique.

Seguin, le premier, constata aussi, à côté de ce *principe amer*, la présence d'une *matière colorante verte* qu'il pensait produite par l'union de ce même principe avec l'albumine.

En 1820, Runge<sup>3</sup>, en même temps qu'il découvrait la caféine, isolait du café deux acides dont l'un présente toutes les réactions indiquées plus tard, pour l'acide cafétannique. Toutefois, l'étude qu'il fit de ces deux corps est loin d'être complète, et il faut arriver en 1846, au mémoire de Payen sur le café, mémoire devenu classique, pour voir la question s'éclairer d'un jour tout nouveau.

Payen<sup>4</sup>, en effet, dans son analyse du café retire un acide particulier auquel il donne le nom d'*acide chlorogénique* et démontre que la plus grande partie de la caféine se trouve combinée dans la plante, à l'état de : *chlorogénate de potassium* et de *caféine*. L'ammoniaque colore cet acide en vert intense, après quelque temps d'exposition à l'air, coloration que l'on remarque directement dans la graine.

La substance verte ainsi formée prend donc naissance aux

<sup>1</sup> La plus grande partie de ce travail est empruntée au savant mémoire de M. le professeur Brœmer : *Les Tannoïdes*.

<sup>2</sup> SÉGUIN ; Mémoire sur le Café. Ann. Chimie, tom. XCII, pag. 5.

<sup>3</sup> RUNGE ; Mater. z. Phytologie, pag. 146. Kaffee.

<sup>4</sup> PAYEN ; Mémoire sur le Café. C. R. Ac. Sc., XXII, pag. 724 ; XXIII, pag. 8 et 244. Ann. Chim. et Phys. (3)<sup>e</sup> XXVI, pag. 108.

dépens de ce même acide que, pour cette raison, Payen appelle acide chlorogénique et auquel il a donné la formule  $C^{14}H^8O^7$ .

A son tour, Rochleder<sup>1</sup> obtient ce principe chromogène qu'il range dans les tannins et dénomme : *acide cafétannique* (*Kaffegerbsäure*) nom qui lui est resté.

Il isole, d'autre part, la matière colorante qu'il appelle : *acide viridique*<sup>2</sup> (*viridinsäure*) et qu'il ne faut pas confondre avec l'*acide verdique*.

Quelques années après, en étudiant le maté<sup>3</sup> et la racine de caïnga<sup>4</sup>, il retrouve ce même tannin identique à l'acide cafétannique que, plus tard, MM. Heckel et Schlagdenhauffen<sup>5</sup> rencontreront à leur tour, dans la noix de Kola.

Mais les travaux les plus précis et les plus concluants sur la nature chimique de l'acide qui nous occupe sont, sans contredit, ceux dus à Hlasiwetz<sup>6</sup>, qui, en 1867, le retire à l'état pur du café.

Il démontre, en outre, que soumis à l'action de la potasse étendue, l'acide cafétannique se dédouble, en s'hydratant, en *acide caféique* et *mannitanne*.

Hlasiwetz, se basant sur cette réaction, le range dans les glucosides et lui assigne la formule  $C^{14}H^8O^8$ , un peu différente, comme on le voit, de celle de Payen.

Disons en passant que l'acide caféique<sup>7</sup>, si souvent confondu

<sup>1</sup> ROCHLEDER ; Ann. Chem. u. Pharm., LXI, pag. 300. Ap. Journ. Pharm. et Chim. (3) X, pag. 455.

<sup>2</sup> *Id.*, Ann. Chem. u. Pharm., LXIII, pag. 193.

<sup>3</sup> *Id.*, Sitzb. Ak. Wiss. Wien, II, pag. 93.

<sup>4</sup> ROCHLEDER et HLASIWETZ ; Sitzb. Ak. Wiss. Wien, V, pag. 6.

<sup>5</sup> HECKEL et SCHLAGDENHAUFFEN ; Composition de la noix de Kola. C. R. Ac. Sc., tom. XCIV, pag. 802, 1882.

<sup>6</sup> HLASIWETZ ; Kaffegerbsäure. Sitzb. Ak. Wiss. Wien, LV $\frac{1}{2}$  pag. 8.

<sup>7</sup> *Id.*, Ann. der Chem. u. Pharm., tom. CXLII, pag. 219, nouv. série, tom. LXVI et Bull. Soc. Chim., tom. IX, pag. 123, 1868.

avec l'acide cafétannique lui-même, est triatomique et appartient à la série cinnamique.

Tiemann et Nagajosi-Nagai<sup>1</sup> ont montré, de leur côté, qu'il est l'homologue inférieur de l'acide férulique dérivé des résines d'Ombellifères.

<sup>1</sup> TIEMANN et NAGAJOSI-NAGAI; Ber. d. Chem. Gesellsch., XI, pag. 646, 1877 et Deutsch. Chem. Gesellsch., pag. 651 et 656, 1878. Bull. Soc. Chim., tom. XXXI, pag. 30.

---

## DEUXIÈME PARTIE

---

### CHAPITRE PREMIER

#### PROPRIÉTÉS PHYSICO-CHIMIQUES DE LA CAFÉINE ET DE L'ACIDE CAFÉTANNIQUE

---

##### Caféine.

I. — PROPRIÉTÉS PHYSIQUES. — La caféine cristallise en fines aiguilles soyeuses et blanches, renfermant  $8,4\% = 1$  molécule d'eau de cristallisation qu'elle ne perd pas complètement à  $150^{\circ}$ .

Mulder <sup>1</sup> lui assigne  $178^{\circ}$  comme point de fusion, tandis que Strecker <sup>2</sup> porte ce même point de fusion à  $234^{\circ}$  et M. Commaille <sup>3</sup> à  $229^{\circ}$ .

L'écart est encore plus grand pour ce qui concerne sa température de vaporisation. D'après Strauch <sup>4</sup>, la caféine se sublimerait à  $177^{\circ}$  et entrerait en ébullition à une température beaucoup plus élevée. Péligré <sup>5</sup> indique  $384^{\circ}$  comme point de volatilisation.

Ainsi que nous le disons dans notre avant-propos, il nous a paru intéressant de vérifier ces chiffres si différents et d'étudier à nouveau ces points de fusion et de volatilisation.

<sup>1</sup> MULDER; Ann. de Pogendorff, LXII, pag. 160.

<sup>2</sup> STRECKER; Ann. de Chim. et de Pharm, CXVIII, pag. 151.

<sup>3</sup> COMMAILLE; Bull. Soc. Chim., 1876, I, pag. 261.

<sup>4</sup> STRAUCH *Viertelji*; Schr. f. Pharm., XVI, pag. 161.

<sup>5</sup> Ann. de Chim. et de Phys., 3<sup>e</sup> série, XI, pag. 138.

Pour cela, nous avons chauffé lentement la caféine pure sur un bain de mercure, et nous avons pu constater qu'elle émet des vapeurs à partir de 177-178°. Elle fond à 228-229°, en continuant de se sublimer jusqu'à ce que toute trace du produit ait disparu.

Cette sublimation s'effectue sans décomposition et sans répandre d'odeur caractéristique.

Si, après la fusion, on laisse la température s'abaisser, la caféine se reprend immédiatement en fines aiguilles et continue à se volatiliser jusqu'à ce qu'on ait à nouveau atteint 177°.

Pour déterminer d'une façon plus précise le point de fusion, nous avons laissé la température du bain de mercure s'élever jusque vers 225°. A ce moment seulement, nous avons projeté la caféine sur le bain et l'avons vue fondre dès que le thermomètre a accusé 228°.

Il résulte donc nettement de ce qui précède, que la caféine commence à se vaporiser à 177-178° avant de fondre, et n'entre en fusion qu'à 228-229°.

Comme on le voit, le premier nombre correspond à celui donné par Strauch, le second à celui qu'indique M. Commaille.

Ce même auteur<sup>1</sup> a fixé le degré de solubilité de la caféine dans les divers dissolvants. D'après lui, le chloroforme, à la température ordinaire (16° environ), est le mieux approprié. Il en dissout 6 fois plus que l'alcool, 19 fois plus que l'eau, 200 fois plus que le sulfure de carbone et l'éther et 500 fois plus que l'essence de pétrole. Mais ces proportions changent si on opère à la température d'ébullition des liquides. C'est l'eau alors qui vient en première ligne. Elle en dissout 45 %; le chloroforme 19 %; l'alcool 3,12 %; le sulfure de carbone 0,45 %; l'éther 0,36 %. La caféine se dissout aussi dans la benzine et l'alcool amylique.

<sup>1</sup> *Loc. cit.*

II. — ACTION DE LA CHALEUR. — D'après Payen et Personne, la caféine, par l'action de la chaleur, dégage de la méthylamine lorsqu'elle est unie à un acide organique capable de fournir de l'hydrogène. Le même phénomène se produit si on la fait bouillir avec de la potasse (Wurtz), ou si on la chauffe avec de l'hydrate de baryte (Strecker). Il se forme, dans ce dernier cas, un nouveau composé : le caféidine.

III. — COMBINAISONS INSOLUBLES. — Bien que n'étant pas un alcaloïde, la caféine fournit des précipités plus ou moins colorés avec quelques-uns des réactifs généraux des alcaloïdes.

L'*Iodure de potassium iodé* fournit, dans une solution chlorhydrique de caféine, un précipité brun très abondant. Cette réaction permet de décèler jusqu'à 1/2.000 de caféine. Il ne se produit aucun dépôt, si on emploie une simple solution aqueuse du principe actif.

L'*Iodure de bismuth et de potassium* paraît, au premier abord, posséder les mêmes avantages ; mais ce sel double se décompose trop facilement en présence de l'eau. C'est là un inconvénient qui empêche d'apprécier la limite de réaction.

Le *bichlorure de platine* et le *chlorure d'or* ne donnent aucun résultat dans une solution neutre. Si on a affaire à une solution chlorhydrique de caféine, il se produit, au bout de quelque temps, un précipité cristallin de couleur jaune orangé, que quelques lavages à l'alcool suffisent à purifier.

Le *bichlorure de mercure* donne immédiatement un précipité cristallin dans les solutions neutres de la caféine au 1/500. Les cristaux sont très solubles dans l'eau et l'alcool, ainsi que dans les acides chlorhydrique et oxalique. Ils sont insolubles dans l'éther.

Le *phosphomolybdate de sodium* s'emploie beaucoup plus faci-

lement. Le précipité qu'il produit peut déceler jusqu'à 1/4.500 de caféine.

Le *tannin* précipite aussi les solutions très étendues de caféine.

IV. — ACTION DES OXYDANTS. — Chauffée avec du chlorure d'or, la caféine cristallisée ou en solution acétique ou chlorhydrique ne produit aucun changement dans la liqueur. Si on ajoute au mélange du sel d'or et de caféine quelques gouttes de potasse caustique et qu'on chauffe à l'ébullition, on obtient un précipité noir d'or métallique.

Il en est de même avec le nitrate d'argent. Il se dépose, lorsqu'on opère dans des conditions analogues, un miroir d'argent métallique sur les parois du tube à essai.

La réduction de ces deux sels semble ici opérée, non par la caféine elle-même, mais par ses produits de décomposition par la potasse.

Il n'en est plus de même lorsqu'on fait agir sur elle des oxydants très énergiques, tels que l'acide chromique, le molybdate d'ammoniaque, le permanganate de potassium, le peroxyde de plomb, l'oxyde mercurique récemment précipité, et surtout, l'acide azotique, le chlore et le brome. La caféine montre vis-à-vis de ces corps un pouvoir réducteur considérable. Elle se convertit, en effet, sous l'influence de ces divers agents d'oxydation en alloxane et tétramethylalloxantine, puis en cholestrophane ou acide diméthylparabanique et donne, au contact de l'ammoniaque, une belle coloration rouge pourpre due à la formation de purpurate d'ammoniaque ou murexide.

Ces réactions, suivies de la formation finale de la murexide sous l'influence de l'ammoniaque, sont d'ailleurs analogues à celles que donne l'acide urique, dont la caféine n'est, comme on l'a vu plus haut, que le dérivé immédiat.

Nous ne décrirons en détail que les réactions obtenues à l'aide

de l'acide azotique, du chlore et du brôme, qui sont les seuls agents d'oxydation généralement usité dans ce cas.

*Acide azotique.* — Si, après avoir fait bouillir pendant quelque temps de la caféine avec de l'acide azotique fumant, on évapore ensuite la liqueur, on obtient un résidu jaune qui se colore en rouge pourpre en présence de l'ammoniaque. Mais cette réaction est très incertaine. Il en est de même de celle où, au lieu d'acide azotique fumant, on emploie l'acide azotique ordinaire.

Toutefois, dans ce dernier cas, il vaut mieux évaporer le mélange au bain-marie, verser dans le résidu quelques gouttes d'acide chlorhydrique et réduire jusqu'à siccité complète. Une minime quantité d'ammoniaque suffit alors pour donner la coloration rouge pourpre.

*Chlore.* — Lorsqu'on dirige un courant de chlore gazeux à travers une bouillie de caféine et d'eau, les cristaux disparaissent peu à peu; après évaporation complète, on obtient, par addition d'ammoniaque, la même coloration rouge.

Le chlore est un réactif bien préférable à l'acide nitrique et qui permet de déceler 0,00025 de caféine.

Il peut être remplacé par un mélange de chlorate de potasse et d'acide chlorhydrique ou d'acide chlorhydrique et de nitrate de potasse. Mais l'oxydation est ici bien plus énergique, et la coloration que donne l'ammoniaque au lieu d'être rouge est violacée.

*Brôme.* — On peut aussi se servir du brome qui se comporte d'une façon analogue au chlore.

Le brôme a même cet avantage qu'il peut servir à différencier la caféine de la théobromine. Il est le seul, en effet, des composés précédemment énumérés qui ne donne aucune réaction avec la théobromine. Tous les autres la colorent de la même façon que la caféine.

Nous ne croyons pas inutile, avant de terminer cette étude

des propriétés physico-chimiques de la caféine; de faire ressortir sa faible basicité.

La constitution que lui a assignée Fischer, et qui la range parmi les uréides, montre que la caféine n'est pas un alcaloïde comme on l'a cru pendant longtemps.

Son action, absolument nulle vis-à-vis des réactifs ordinaires des bases (tournesol, teinture de curcuma, de bois de campêche, etc.), met ce fait encore mieux en lumière.

M. Tanret,<sup>1</sup> a d'ailleurs montré que la caféine est incapable de neutraliser la plus petite quantité d'acide et que la plupart des sels de caféine employés en thérapeutique n'existent pas.

Les acétate, lactate, citrate, etc., de caféine, ne sont que des solutions du principe actif qui, par évaporation, laissent déposer de la caféine pure, tandis que l'acide se volatilise à peu près complètement.

### Acide cafétannique.

Il rougit fortement le tournesol. Soluble dans l'eau, il l'est beaucoup moins dans l'alcool, sa saveur est astringente. Il cristallise difficilement en mamelons. Chauffé, il fond en répandant une odeur de café brûlé; puis donne à la distillation de l'eau et une huile épaisse qui se concrète par le refroidissement et qui est de l'acide oxyphénique. L'acide sulfurique concentré le dissout à chaud avec une coloration rouge foncé. La potasse le dissout en se colorant en jaune. Soluble aussi dans l'ammoniaque, sa solution ammoniacale verdit au contact de l'air en donnant, comme nous l'avons déjà vu, l'acide viridique.

Il colore en vert les sels ferriques. Les sels ferreux ne sont précipités par cet acide qu'en présence de l'ammoniaque. Il précipite également les sels de quinine et de cinchonine, mais il est sans action sur l'émétique et la gélatine.

<sup>1</sup> TANRET; Bull. Soc. thérapeut., déc. 1881.

Il réduit le nitrate d'argent, et, comme avec la caféine, on obtient à chaud un miroir métallique.

Telles sont les réactions employées jusqu'ici pour caractériser la caféine et l'acide cafétannique. Nous avons poussé plus loin l'étude des plus sensibles d'entre elles, et nos recherches nous ont permis d'en ajouter d'autres à la liste que nous venons de donner.

---

## CHAPITRE II

---

Ainsi que nous avons déjà eu l'occasion de le dire, la caféine se trouve dans le café, combinée en majeure partie avec l'acide cafétannique. Or, comme nos recherches nous ont permis de le constater, les réactions microchimiques de l'une sont souvent analogues et parfois identiques aux réactions de l'autre. Il était donc nécessaire de les étudier séparément, et tout d'abord, *in vitro*, de trouver des caractères distinctifs pour l'un et l'autre de ces corps, afin de pouvoir révéler, d'une façon nette et certaine, leur présence dans les organes où ils siègent de préférence, lorsque nous les examinerions *in situ*.

C'est à cette étude qu'est destiné ce second chapitre.

Pour nous rapprocher le plus possible des conditions qui se trouvent réalisées dans les végétaux, nous avons employé la méthode suivante : Une parcelle du corps à étudier (caféine ou acide cafétannique) est placée sur la lame porte-objet. On dépose ensuite sur la parcelle une goutte du réactif approprié. Mais, vu la faible quantité du corps étudié, cette goutte doit être aussi très petite, si l'on veut percevoir nettement la réaction.

La préparation ainsi obtenue est placée sur la platine du microscope sans avoir été, au préalable, recouverte de la lamelle couvre-objet. Cette dernière condition est indispensable si l'on veut observer les phénomènes qui accompagnent l'évaporation de la liqueur, la structure, la couleur du résidu, caractères qu'il est important de noter.

### Etude microchimique de la caféine.

Quel que soit le corps oxydant employé, la réaction de la murexide ne peut jamais être obtenue, avec la minime quantité de caféine contenue dans une coupe d'un organe quelconque.

C'est donc à d'autres réactions qu'il faut s'adresser, pour la caractériser microchimiquement.

Nous décrivons plus bas quelques-unes des réactions que nous avons étudiées.

*Iodure de potassium iodé.* — Une goutte d'acide chlorhydrique est déposée sur la lame porte-objet. On y laisse tomber quelques parcelles de caféine, qui se dissolvent immédiatement ; si on ajoute alors une goutte de réactif, il se produit un précipité *rouge* qui, après évaporation, se prend en belles aiguilles.

*Ferricyanure de potassium.* — Ce réactif qui, à notre connaissance du moins, n'avait jamais été employé pour déceler la caféine, donne, avec une solution chlorhydrique de celle-ci et, après évaporation, des aiguilles *bleues*. Dans cette combinaison, le prussiate rouge est réduit et fournit un précipité de bleu de Prusse au contact du chlorure ferrique.

*Molybdate d'ammoniaque.* — Nous nous sommes servi du réactif de Gardiner<sup>1</sup>, solution saturée de molybdate d'ammoniaque, dans le chlorhydrate d'ammoniaque (parabrév. : chloro-molybdate d'ammoniaque). Ce réactif présente l'avantage de contenir plus de molybdate d'ammoniaque qu'une simple solution aqueuse. Le molybdate étant très peu soluble dans l'eau, se dissout ici à la faveur du chlorhydrate.

Il donne un précipité blanc amorphe dans la solution chlorhy-

<sup>1</sup> GARDINER ; Proceed. of Dambridge philos. Society. 4, S., tom. VI, pag. 387.

drique de caféine. Ce précipité se redissout à chaud. Si l'on évapore à siccité, il cristallise alors et se dépose, sous forme de cristaux aciculaires disposés en séries parallèles, la masse cristalline ainsi obtenue se colore en *bleu* sur les bords, au bout d'un certain temps, indice de la réduction de l'acide molybdique.

Toutefois le précipité se forme mieux, si l'on verse d'abord le réactif sur la caféine, et, si on n'ajoute l'acide chlorhydrique qu'en dernier lieu. Remplace-t-on comme dissolvant, l'acide chlorhydrique par l'acide sulfurique, le précipité s'obtient moins facilement à froid. A chaud, il cristallise de la même façon, et donne la même coloration bleue. Signalons enfin que l'ammoniaque liquide ou gazeuse fait perdre cette coloration aux cristaux, qui restent comme résidu de l'évaporation. Elle réapparaît toutefois par l'action de la chaleur.

*Tungstate de soude.* — Nous avons employé le tungstate de soude, en solution saturée dans l'acétate de soude, qui le dissout facilement. Ce réactif produit instantanément, sur une solution de caféine dans l'acide chlorhydrique, un précipité blanc cailleboté très abondant. Ce précipité vire immédiatement au *jaune* par la chaleur ou, au bout de quelque temps, par le simple contact de l'air.

*Vanadate d'ammoniaque.* — Voici comment nous préparons ce réactif :

|                            |                     |
|----------------------------|---------------------|
| Vanadate d'ammoniaque..... | 0 <sup>gr</sup> ,50 |
| Eau distillée.....         | 20 gram.            |
| Faire dissoudre à chaud.   |                     |

C'est comme toujours sur une solution chlorhydrique de caféine, que nous l'avons étudié. Une goutte ne produit dans cette solution qu'un trouble léger et à peine visible. En laissant évaporer à chaud ou à froid, on obtient un résidu d'un beau rouge. Si on expose ce résidu à l'air pendant vingt-quatre heures environ,

il passe du rouge à la coloration *jaune-verdâtre*, qu'on obtient par la simple évaporation à l'air, d'une solution chlorhydrique de vanadate d'ammoniaque.

Ce sel n'agit donc ici que comme oxydant. Sans donner de précipité au préalable, il est réduit par la caféine, à la façon du molybdate d'ammoniaque. Ce qui le prouve, c'est qu'il reprend ses propriétés physiques au contact de l'oxygène de l'air.

Ce réactif d'une grande sensibilité permet de caractériser, sous le microscope, des traces de la caféine.

*Acide phosphomolybdique.* — Nous faisons une solution avec :

|                                   |         |
|-----------------------------------|---------|
| Acide phosphomolybdique . . . . . | 1 gram. |
| Eau distillée . . . . .           | 10 —    |

Traitée par ce réactif, une solution chlorhydrique de caféine donne un magnifique précipité jaune cailleboté. Ce précipité, après avoir été chauffé jusqu'à siccité complète, prend une coloration *vert bleuâtre*, caractéristique et un peu différente de la coloration obtenue par le molybdate d'ammoniaque. Très manifeste dans une solution de caféine au 1/50.000, ce précipité est encore perceptible dans une solution au 1/80.000.

Les auteurs qui ont signalé la formation de ce précipité dans les solutions de caféine n'ont pas parlé de la réduction qu'y opère en même temps cette dernière, réduction qui peut permettre de la caractériser, alors même qu'il n'y aurait pas de précipité, c'est-à-dire dans une solution plus faible encore que celle au 1/80.000.

Si en effet, on traite une solution aussi diluée par une goutte de réactif, on n'aura pas de précipité ; mais si l'on a soin d'évaporer à sec, on percevra immédiatement la couleur *vert bleuâtre*, qui provient de la réduction.

*Chlorure d'or.* — MM. Hanauseck <sup>1</sup> et Molisch <sup>2</sup> ont été les premiers à employer le chlorure d'or, pour caractériser microchimiquement la caféine dans les graines de coffea.

Leur méthode est la suivante :

On place une ou plusieurs coupes dans une goutte d'acide chlorhydrique concentré. Au bout d'une minute, on ajoute du chlorure d'or en solution à 3 %. On porte sous le microscope avec un faible grossissement. Une partie de la liqueur étant évaporée, on aperçoit sur le bord de la goutte, des aiguilles plus ou moins longues, jaunâtres, réunies en buisson.

On est ici en présence de la combinaison double d'or et de caféine, que Nichelson obtient en ajoutant un excès de chlorure d'or à une solution chlorhydrique de caféine. C'est la combinaison  $C^8H^{10}Az^4O^2$ ,  $HCL$ ,  $AuCL^3$ , ou chlorure double d'or et de caféine ou encore *Chloraurate de caféine*.

Dans cette réaction, il se dépose toujours des cristaux de chlorure d'or; surtout si l'on emploie une solution un peu concentrée de ce sel. Or ces cristaux déposés au sein de l'acide chlorhydrique, affectent quelquefois la forme de petites tablettes rectangulaires; mais le plus souvent, ce sont des prismes assez longs qu'on peut confondre avec les aiguilles de chloraurate de caféine. On pourrait même conclure à la présence du principe actif, alors qu'il n'y en aurait aucune trace dans la solution étudiée. C'est là une remarque très importante à faire et que, du reste, Hanauseck ne manque pas de signaler dans son mémoire.

Aussi, pour pouvoir distinguer, à coup sûr, ces deux sortes de cristaux, nous avons, d'une part, effectué la réaction non

<sup>1</sup> HANAUSECK (T. F.); Zur histochemischen coffeinreaktion. Zeitzsch. d. Allg. Oester. Apotheker. Vereins, 1891, pag. 606. Ref. Bot. Centralbl., 1891. Bd. 48, pag. 284.

<sup>2</sup> MOLISCH; Grundriss einer Histochem. der pflanzlichen Genussmittel. Iéna, 1891.

pas sur une coupe, mais sur de la caféine pure qui a été dissoute dans une goutte d'acide chlorhydrique et traitée ensuite par le chlorure d'or. Dans ces conditions, il se dépose, sur les bords de la goutte et dès que l'évaporation commence, de longues aiguilles jaunes groupées par touffes. Ces aiguilles sont fines et délicates, à contours réguliers et terminées en pointe à leur extrémité.

D'autre part, nous avons pris du chlorure d'or seul, auquel nous avons ajouté une goutte d'acide chlorhydrique. Après évaporation, nous avons trouvé de longs prismes isolés ou rayonnants par groupes autour d'un même point ; ils ont un diamètre plus grand que ceux dus à la caféine ; leur extrémité est nettement carrée ou taillée en biseau ; leurs bords sont irréguliers.

Ces caractères suffisent pour distinguer ces cristaux les uns des autres, surtout avec un peu d'habitude.

*Action de la Benzine.* — Molisch caractérise encore la caféine par le procédé suivant : Il place les coupes sur le porte-objet, dans une goutte d'eau distillée et chauffée jusqu'à l'ébullition. Il laisse ensuite le reste du liquide s'évaporer à la température ordinaire.

Si l'on examine alors au microscope, on n'aperçoit pas de cristaux de caféine parce qu'ils ne peuvent pas se former dans la solution gélatineuse obtenue ; mais vient-on à ajouter une petite goutte de benzine, celle-ci dissout toute la caféine et, par évaporation, laisse déposer sur les bords de la goutte une grande quantité de cristaux en forme d'aiguilles incolores qui possèdent toutes les propriétés de la caféine.

### Étude microchimique de l'acide cafétannique

Sans revenir ici sur les réactifs déjà indiqués pour l'acide cafétannique, rappelons que l'ammoniaque et le chlorure ferrique colorent en *vert* le tannin du café. Ces réactifs peuvent être employés microchimiquement et donnent avec l'acide cafétan-

nique contenu dans la cellule des précipités et des colorations identiques à ceux que l'on obtient avec des solutions aqueuses de ce corps.

Nous allons relater en quelques mots les réactions que nous avons étudiées.

Comme pour la caféine, nous avons étudié microchimiquement l'acide cafétannique déposé par parcelles, sur le porte-objet. Nous nous sommes servi d'acide cafétannique pur que nous avons préparé nous-même, d'après la méthode suivie par Hlasiwetz <sup>1</sup>.

Cent grammes de café ont été concassés et mis à macérer pendant quatre jours dans deux fois leur volume d'eau distillée. La liqueur, traitée par l'acétate de plomb et filtrée, a donné un beau précipité jaune verdâtre, rappelant assez la couleur du café lui-même. Ce précipité a été lavé plusieurs fois à l'eau distillée, mis une dernière fois en suspension dans l'eau et finalement traité jusqu'à refus par un courant d'hydrogène sulfuré.

Après filtration, nous avons obtenu une liqueur jaune qui, mise à évaporer au bain-marie, a laissé comme résidu de l'acide cafétannique pur et exempt de caféine.

Ce corps se présente alors sous forme d'une substance résineuse jaune-brun, non amère comme les autres tannins et laissant un arrière-goût qui rappelle celui du caramel. Au microscope, il se montre formé de masses tabulaires en forme de quadrilatères irréguliers et de masses mamelonnées. Souvent même, on le trouve cristallisé en petites aiguilles très courtes rayonnant autour d'un centre. Ces groupes de cristaux sont disséminés çà et là dans le restant de la masse.

Notons en passant qu'il est très peu soluble dans l'acide chlorhydrique et dans l'acide acétique.

*Action du chlore.* — En traitant des coupes de graines de caféier, par le chlore, dans le but d'obtenir la coloration de la murexide,

<sup>1</sup> *Loc. cit.*

nous pensions, après traitement par l'ammoniaque, avoir obtenu cette réaction ; mais un examen plus attentif nous a prouvé que la quantité minime de caféine contenue dans la cellule, ne permettait pas d'avoir la coloration du purpurate d'ammoniaque, et que la coloration rouge obtenue était due à l'action du chlore sur l'acide cafétannique. Cette coloration se manifestait, en effet, sous l'influence du chlore seul, et sans l'intervention ultérieure de l'ammoniaque.

Pour nous convaincre de ce fait, nous avons successivement traité par le chlore gazeux et l'eau de chlore l'acide cafétannique pur que nous avons préparé nous-même. Dans l'un et l'autre cas, nous avons obtenu une coloration *rouge*.

Rawson <sup>1</sup> avait déjà indiqué l'eau de chlore comme un bon réactif des acides tannique et gallique qu'il colore en rouge.

Nous venons de voir, que le chlore gazeux ou en solution aqueuse, peut servir aussi à caractériser l'acide cafétannique.

*Chloro-molybdate d'ammoniaque*. — Ce réactif, dont Gardiner <sup>2</sup> conseille l'emploi pour caractériser les tannins en général, nous a donné d'excellents résultats pour l'acide qui nous occupe.

Nous nous sommes servi de la liqueur préparée, comme il a été dit, à propos de la caféine.

Mise directement en contact avec l'acide cafétannique, elle le colore en *jaune-brun*.

Si on traite au préalable ce composé par l'acide acétique, la réaction se fait mal et la coloration est jaune.

Elle est complètement nulle, si on le traite par l'acide chlorhydrique.

*Iodure de potassium-iodé*. — Il communique à l'acide cafétannique une coloration *rouge cerise*.

<sup>1</sup> RAWSON ; Chemical news der Schweizer Wochenschr. für Pharm., XXVII, 1889, pag. 206.

<sup>2</sup> Loc. cit.

*Acéto-tungstate de soude.* — M. Brœmer<sup>4</sup> le préconise comme réactif des tannins en général. Il le prépare d'après la formule suivante :

|                                  |                  |
|----------------------------------|------------------|
| Tungstate de soude.. . . . . .   | 1 gram.          |
| Acétate de soude. . . . . . .    | 2 —              |
| Eau distillée Q.S. pour. . . . . | 10 <sup>ce</sup> |

Nous avons essayé son action sur le tannin du café. La réaction est immédiate comme avec le réactif de Gardiner et produit une coloration *jaune très clair*.

Très visible dans les régions où l'acide est abondant, cette réaction est beaucoup moins nette et même difficile à saisir par suite de la pâleur de la coloration dans les endroits où ce tannin ne présente qu'une faible épaisseur.

*Acide phosphomolybdique.* — Il donne un précipité *jaune* qui verdit ensuite.

*Chlorure ferrique.* — La réaction, qui se fait mal à froid, réussit mieux à chaud, et la coloration *verte* apparaît instantanément, si l'on porte la lame de verre sur la flamme d'une lampe à alcool.

<sup>4</sup> BRÖMER ; Bull. Soc. Hist. naturelle. Toulouse, janvier, 1889.

---

## TROISIÈME PARTIE

---

Pour caractériser la caféine dans le végétal, nous avons suivi la même méthode que pour l'étudier *in vitro*, et ce n'est qu'après un traitement préalable des coupes par l'acide chlorhydrique, que nous avons fait usage des réactifs.

La caféine a été ainsi isolée de sa combinaison avec l'acide cafétannique, combinaison qui est, on le sait, très instable comme, du reste, toutes celles de caféine<sup>1</sup>, et caractérisée au sein de sa solution chlorhydrique<sup>2</sup>.

C'est dire que nous n'avons pas fixé sa « *localisation* » au sens qu'on accorde aujourd'hui à ce mot.

Nous avons cependant cherché à déterminer aussi bien que possible ses régions d'élection, et, faute de réactifs permettant de la caractériser dans la cellule elle-même, nous nous sommes quelquefois aidé de la dissociation des éléments anatomiques, pour comparer entre elles les réactions de chacun d'eux.

Parmi les réactions déjà étudiées, nous avons surtout employé celles du *chloromolybdate d'ammoniaque* qui, nous l'avons vu, donne avec la caféine, un précipité se colorant en bleu après

<sup>1</sup> TANRET; *loc. cit.*

<sup>2</sup> Les matières albuminoïdes étant insolubles dans cet acide, nous n'avons pas craint la confusion qu'auraient pu présenter leurs réactions avec celles de la caféine. Nous ne nous sommes donc pas servi de la méthode de M. Errera. (ERRERA; *Distinction microchimique des alcaloïdes et des matières protéiques*).

évaporation ; du *Vanadate d'ammoniaque* qui, lui, ne donne pas de précipité, mais fournit une coloration rouge, dès que le liquide est évaporé.

Ces sels, nous l'avons dit, sont réduits par la caféine. Or, opérant ici en présence d'autres matières organiques qui pouvaient aussi se dissoudre plus ou moins dans l'acide chlorhydrique, nous avons à nous défier de leur action réductrice. Aussi avons-nous toujours contrôlé nos résultats en employant la réaction du chlorure d'or, appliquant en cela à la plante entière que nous avons étudiée, la méthode employée par MM. Hanauseck et Molisch dans leur étude de la graine de caféier.

Enfin, certains de nos résultats ont subi, comme on le verra plus loin, le contrôle de l'analyse chimique.

Quant à l'acide cafétannique, nous l'avons caractérisé au moyen du *chlorure ferrique*, qui le colore en vert et du *chloromolybdate d'ammoniaque*, qui lui communique une teinte jaune brun. Nous nous sommes contenté de ces réactions, qui sont suffisamment caractéristiques, et nous ont permis de localiser le tannin du café, dans les différents tissus de la plante.

**Le Caféier** (*Coffea arabica*, LIN.). — Le caféier est un arbrisseau toujours vert, pouvant atteindre de 5 à 7 mètres de haut. Ses feuilles sont opposées, luisantes, d'un vert foncé sur la face supérieure, plus pâle sur la face inférieure, portées sur un pétiole court sans stipules.

Les fleurs sont blanches, odorantes, analogues pour la forme et la couleur à celles du jasmin. L'ovaire a 2 loges qui renferment chacune un seul ovule ; le style est simple, grêle, terminé par un stigmate bifide. Les fruits, appelés généralement aux Antilles, *cerises du café* sont charnus, gros comme une cerise, rouges comme elle, et deviennent violacés à la maturité.

Ils renferment deux noyaux représentant l'endocarpe. Le

mésocarpe est formé d'un parenchyme succulent et constitue la partie charnue du fruit. L'épicarpe est un mince épiderme. Chaque noyau renferme une graine, convexe sur sa face externe, plane sur la face interne et creusée, sur cette face d'un sillon longitudinal.

Ce sillon se continue à l'intérieur de la graine par une sorte de repli auquel Marchand<sup>1</sup>, dans sa monographie du café, donne le nom de *sinus*. Ce sinus se forme par un enroulement de l'albumus, suivant la longueur : un des bords restant fixe, l'autre se replie à la façon d'un cornet ; de sorte que, si l'on fait une coupe transversale de la graine, on voit le sillon pénétrer dans l'intérieur, et décrire ensuite une courbe parallèle à la face dorsale.

FRUIT. — PÉRICARPE. — Le tissu externe, mou et gorgé de sucs dans sa plus grande partie, porte sous l'épiderme incolore deux ou trois assises de cellules remplies d'une matière colorante rouge, qui donne au fruit sa coloration.

Les réactifs n'accusent dans ce tissu, pas plus d'ailleurs que dans l'endocarpe coriace, aucune trace de caféine ni de tannin.

GRAINE. — A. *Tégument*. — Le tégument est formé de deux assises de cellules : les unes allongées, aplaties, à parois épaisses, à sculpture ponctuée, dans lesquelles on distingue nettement de petits grains sphériques de couleur rose pâle ; les autres polygonales, à parois très minces et sans contenu apparent.

Ces cellules sont également dépourvues de caféine et de tannin.

B. *Albumen*. — Des coupes minces faites dans cet organe le montrent formé de grandes cellules à fortes membranes présentant des épaississements qui en rendent le contour bosselé. Elles contiennent de nombreuses granulations incolores qui,

<sup>1</sup> MARCHAND ; Recherches organographiques et organogéniques sur le *Coffea Arabica*, 1864, pag. 6.

tantôt sont réunies en masses, tantôt, au contraire sont isolées et éparses. Parmi ces grains, on en trouve qui sont nettement sphériques et plus volumineux que les autres. Ceux-ci sont généralement isolés. Ils sont colorés en rouge par la *teinture d'Alkana*, en jaune clair, par l'*iode*. Sous l'action de la chaleur, ils se déforment, s'allongent, deviennent ovoïdes, et finalement leur contour s'évanouit. A tous ces caractères, il est facile de voir qu'on est en présence de corps gras.

Une autre partie du contenu cellulaire, formée des granulations les plus fines, revêt tous les caractères des matières albuminoïdes. Elle se colore, en effet, en rose par le *carmin boraté* ; en rouge brique par le *réactif de Millon*.

L'*iode* ne communique aucune coloration bleue à la masse. Ces cellules paraissent donc entièrement dépourvues d'amidon.

Enfin, l'action du *chlorure ferrique* et du *réactif de Gardiner* montre que la plus grande partie de leur contenu est formé d'acide cafétannique. Coloré en vert par le premier de ces réactifs ; en jaune brun par le second, il se laisse facilement distinguer. Il apparaît sous la forme de masses mamelonnées.

Il abonde dans toute l'étendue du tissu de l'albumen ; mais on le trouve néanmoins en plus grande quantité dans l'assise périphérique externe comme dans les assises bordant le sillon. Ce qui n'a rien d'étonnant, si l'on se rappelle la conformation particulière de la graine et le processus d'après lequel se forme le sillon.

Ces cellules de l'assise périphérique sont gorgées de tannin et de tannin seul. On n'y rencontre ni corpuscules graisseux, ni matières albuminoïdes.

Les réactifs accusent nettement la présence de la caféine, dans l'albumen, quelque minime que soit la partie que l'on examine. Le tissu étant homogène et toutes les cellules contenant du tannin, il y a lieu de penser que la caféine se trouve aussi contenue dans chacune d'elles.

C. *Embryon*. — L'embryon est situé dans la partie inférieure de la graine et sur l'un des côtés de celle-ci. Elargi et aplati à sa partie supérieure, arrondi et cylindrique à sa partie inférieure, il est plongé dans la masse de l'albumen.

Une coupe, faite au niveau des cotylédons, les montre accolés l'un contre l'autre par leur face interne. Sur leur face externe, on voit très bien les saillies des trois nervures principales. Il est formé d'un tissu mou, à petites cellules arrondies très régulières.

Toutes ces cellules sont remplies de tannin.

Pour rechercher la caféine dans l'embryon, nous avons dû le séparer de l'albumen. Cette dissociation se fait facilement sur une coupe de graine à l'aide d'aiguilles très fines. On peut encore isoler l'embryon en entier en faisant bouillir la graine dans l'eau pendant  $3/4$  d'heure.

On peut alors se convaincre qu'il contient de la caféine tout comme l'albumen et en aussi grande abondance, les réactions s'effectuant avec la même netteté.

La caféine se trouvant dans l'embryon et dans l'albumen, il vient naturellement à l'esprit qu'elle sert à la nutrition de la plantule, pendant la germination.

Ce serait donc un aliment de la plante repris ensuite par l'élaboration des tissus de l'embryon et complètement transformé par les phénomènes de la nutrition. On ne la retrouve plus en effet dans la jeune plantule pendant la première période de sa croissance, et on ne la retrouve pas non plus dans la partie désormais inutile de l'albumen et qui est rejetée, une fois la germination terminée. Le tissu auquel nous faisons ici allusion est formé des 7 ou 8 assises externes de l'albumen. Ses cellules sont réduites à leurs parois, tout le contenu cellulaire ayant été absorbé pour la nutrition de la plantule. Les réactifs de la caféine donnent sur ce tissu des résultats entièrement négatifs.

Le tannin paraît jouer un rôle analogue dans la germination.

Comme la caféine, il est absent de la partie rejetée, dont nous venons de parler. Il présente cependant avec elle cette différence, qu'on le retrouve dès les premiers temps du développement de la plante.

### Etude de l'embryon durant la 1<sup>re</sup> phase de la Germination.

Les cotylédons de l'embryon étudié sortaient à peine de terre et n'avaient pas encore verdi. La jeune plante, par conséquent, était entièrement dépourvue de chlorophylle.

La caféine n'a pu être décelée dans aucun des organes. Quant au tannin, on le rencontre dans tous ; mais ses réactions sont alors un peu différentes de celles qu'il offre chez la plante adulte. C'est ainsi qu'au lieu de présenter une coloration jaune brun par le *réactif de Gardiner*, il offre une teinte rouge vermillon. La coloration verte due au *chlorure ferrique* est également plus claire.

**RACINE.** — Elle possède une écorce à cellules larges et arrondies ; le cylindre central comprend une zone de liber et de bois, et à l'intérieur, un tissu lâche formé de grandes cellules constituant la moëlle.

C'est seulement dans l'écorce et dans quelques cellules, peu nombreuses d'ailleurs de celles-ci, qu'on aperçoit l'acide café-tannique.

**TIGELLE.** — Elle offre une structure anatomique peu différente de celle de la racine. On trouve de l'extérieur à l'intérieur : un épiderme à cellules tabulaires, une écorce très épaisse formée de larges mailles contenant en assez grande abondance, des globules jaunes déjà signalés par Marchand<sup>1</sup>. Quant à la moëlle, elle est

<sup>1</sup> MARCHAND ; *loc. cit.*

entourée par une zone presque continue de faisceaux libéro-ligneux. Son tissu est également constitué par de grandes cellules comme le tissu correspondant de la racine. Ces cellules contiennent des granulations, moins nombreuses toutefois que dans l'écorce.

Les réactifs montrent que ces granulations ne sont que de l'acide cafétannique.

Dans la moëlle, elles sont disséminées de ci, de là, sans aucune régularité.

Dans l'écorce, elles abondent vers la périphérie et constituent, en cet endroit, une zone tannifère formée de l'épiderme et des deux ou trois assises de cellules sous-épidermiques. On les retrouve tachetant de points jaunes le péricycle et l'endoderme.

Elles semblent, au contraire, faire complètement défaut dans la région moyenne de l'écorce.

COTYLÉDONS. — Les deux épidermes limitent un parenchyme à cellules toutes semblables. Toutes ces cellules, aussi bien les cellules épidermiques que les autres, contiennent du tannin, nous constaterons, au contraire, que dans la feuille adulte, les cellules de l'épiderme s'évident presque complètement et que le parenchyme seul renferme du tannin.

### Plante adulte.

Nos recherches ont porté sur un jeune arbuste de café, croissant en serre.

RACINE. — Au point de vue anatomique, la racine ne présente rien de particulier à signaler.

Le tannin y est très peu abondant. Il se trouve localisé dans quelques cellules du parenchyme cortical avoisinant le cylindre central.

Nous n'avons pu y déceler aucune trace de caféine.

TIGE. — Les jeunes branches de caféier sont de très bonne heure entourées par une couche de tissu subéreux.

C'est de ces branches jeunes que nous nous sommes servi pour notre étude.

Nous avons pu constater que le tannin était absent de la moëlle et des rayons médullaires, dont les cellules étaient presque vides. Seul, le parenchyme cortical en contient, surtout dans sa partie externe.

Les 4 ou 5 assises périphériques de ce tissu sont en effet remplies d'acide cafétannique et forment une zone tannifère occupant le tiers environ de son épaisseur totale. Dans tout le reste du parenchyme cortical, il est disséminé de ci, de là, sans aucune régularité et fait complètement défaut dans beaucoup de cellules.

Les réactions microchimiques sont entièrement négatives pour ce qui concerne la caféine.

Ces derniers résultats étant en contradiction avec ceux déjà signalés par Stenhouse, nous avons tenu à les vérifier.

Pour cela, nous avons essayé d'extraire la caféine, en opérant sur une certaine quantité de tiges, analogues à celles qui nous avaient servi pour nos essais microchimiques.

La méthode que nous avons suivie est celle de MM. Domergue et Nicolas<sup>1</sup>.

Nos essais ont d'abord porté sur 5 gram. de tiges.

5 gram. de tiges grossièrement concassées ont été mises à bouillir pendant un quart d'heure dans 50 ou 60 centim. cubes d'eau distillée. A la liqueur encore bouillante et légèrement colorée, nous avons ajouté 100 centim. cubes d'une solution à 3 % d'acétate mercurique. L'ébullition a été continuée pendant quelques instants ; puis, le liquide versé bouillant sur un filtre

<sup>1</sup> DOMERGUE et NICOLAS ; Documents analytiques pour l'étude du thé et du café, 1891.

préalablement mouillé. Le précipité a été lavé plusieurs fois à l'eau bouillante, jusqu'à ce que le liquide passe incolore.

La solution ainsi obtenue est à nouveau portée à l'ébullition et additionnée de 2 gram. de magnésie calcinée mélangée intimement à 6 gram. de sable siliceux lavé à l'acide chlorhydrique et de verre grossièrement pilé, et lavé également. Le tout est évaporé à siccité au bain-marie.

La masse restante est introduite dans un appareil à extraction de Soxhlet et lessivée avec un mélange à poids égaux de chloroforme pur et de benziné cristallisable. Nous l'avons ainsi épuisée à 12 reprises consécutives.

Le liquide obtenu en dernier lieu a été ensuite distillé, et le faible résidu repris par le chloroforme bouillant.

La solution chloroformique, mise à évaporer dans une petite capsule de porcelaine, y laisse des traces d'une substance jaunâtre d'aspect cireux. Nous avons cherché à séparer la caféine de ce résidu en le traitant par l'eau bouillante. L'évaporation de l'eau ne nous a donné aucun cristal de caféine, et les réactifs ne nous ont pas donné d'autre résultat. Néanmoins, pour être plus sûr de nos expériences, nous avons, en dernier lieu, opéré sur 20 gram. de tiges. Ici encore, comme précédemment, nous n'avons pu obtenir aucune trace de la caféine.

D'autre part, en faisant subir non plus aux tiges, mais aux feuilles un traitement absolument identique, nous avons obtenu de fines aiguilles de caféine que nous avons pu doser.

Il ressort donc nettement de nos recherches que les tiges que nous avons étudiées ne contenaient pas de caféine.

Nos résultats, nous nous hâtons de le dire, ne sauraient infirmer ceux de Stenhouse. Ses recherches ont en effet porté sur des plantes provenant de pays d'origine. Pour nos analyses, au contraire, nous nous sommes servi de jeunes caféiers rapportés tous au *Coffea arabica* (Lin.), et cultivés en serre chaude, les uns à Marseille, les autres au jardin botanique de Montpellier.

TIGE. — Les jeunes branches de caféier sont de très bonne heure entourées par une couche de tissu subéreux.

C'est de ces branches jeunes que nous nous sommes servi pour notre étude.

Nous avons pu constater que le tannin était absent de la moëlle et des rayons médullaires, dont les cellules étaient presque vides. Seul, le parenchyme cortical en contient, surtout dans sa partie externe.

Les 4 ou 5 assises périphériques de ce tissu sont en effet remplies d'acide cafétannique et forment une zone tannifère occupant le tiers environ de son épaisseur totale. Dans tout le reste du parenchyme cortical, il est disséminé de ci, de là, sans aucune régularité et fait complètement défaut dans beaucoup de cellules.

Les réactions microchimiques sont entièrement négatives pour ce qui concerne la caféine.

Ces derniers résultats étant en contradiction avec ceux déjà signalés par Stenhouse, nous avons tenu à les vérifier.

Pour cela, nous avons essayé d'extraire la caféine, en opérant sur une certaine quantité de tiges, analogues à celles qui nous avaient servi pour nos essais microchimiques.

La méthode que nous avons suivie est celle de MM. Domergue et Nicolas<sup>1</sup>.

Nos essais ont d'abord porté sur 5 gram. de tiges.

5 gram. de tiges grossièrement concassées ont été mises à bouillir pendant un quart d'heure dans 50 ou 60 centim. cubes d'eau distillée. A la liqueur encore bouillante et légèrement colorée, nous avons ajouté 100 centim. cubes d'une solution à 3 % d'acétate mercurique. L'ébullition a été continuée pendant quelques instants ; puis, le liquide versé bouillant sur un filtre

<sup>1</sup> DOMERGUE et NICOLAS ; Documents analytiques pour l'étude du thé et du café, 1891.

préalablement mouillé. Le précipité a été lavé plusieurs fois à l'eau bouillante, jusqu'à ce que le liquide passe incolore.

La solution ainsi obtenue est à nouveau portée à l'ébullition et additionnée de 2 gram. de magnésie calcinée mélangée intimement à 6 gram. de sable siliceux lavé à l'acide chlorhydrique et de verre grossièrement pilé, et lavé également. Le tout est évaporé à siccité au bain-marie.

La masse restante est introduite dans un appareil à extraction de Soxhlet et lessivée avec un mélange à poids égaux de chloroforme pur et de benziné cristallisable. Nous l'avons ainsi épuisée à 12 reprises consécutives.

Le liquide obtenu en dernier lieu a été ensuite distillé, et le faible résidu repris par le chloroforme bouillant.

La solution chloroformique, mise à évaporer dans une petite capsule de porcelaine, y laisse des traces d'une substance jaunâtre d'aspect cireux. Nous avons cherché à séparer la caféine de ce résidu en le traitant par l'eau bouillante. L'évaporation de l'eau ne nous a donné aucun cristal de caféine, et les réactifs ne nous ont pas donné d'autre résultat. Néanmoins, pour être plus sûr de nos expériences, nous avons, en dernier lieu, opéré sur 20 gram. de tiges. Ici encore, comme précédemment, nous n'avons pu obtenir aucune trace de la caféine.

D'autre part, en faisant subir non plus aux tiges, mais aux feuilles un traitement absolument identique, nous avons obtenu de fines aiguilles de caféine que nous avons pu doser.

Il ressort donc nettement de nos recherches que les tiges que nous avons étudiées ne contenaient pas de caféine.

Nos résultats, nous nous hâtons de le dire, ne sauraient infirmer ceux de Stenhouse. Ses recherches ont en effet porté sur des plantes provenant de pays d'origine. Pour nos analyses, au contraire, nous nous sommes servi de jeunes caféiers rapportés tous au *Coffea arabica* (Lin.), et cultivés en serre chaude, les uns à Marseille, les autres au jardin botanique de Montpellier.

Nous nous croyons donc autorisé à conclure que les tiges de caféiers cultivés dans de telles conditions sont dépourvues de caféine.

FEUILLE. — Entre les deux épidermes de la feuille se trouve un parenchyme à cellules allongées, en palissade, du côté de l'épiderme supérieur; près de l'épiderme inférieur, au contraire, et occupant les deux tiers de l'épaisseur, se trouvent des cellules très irrégulières, étoilées parfois, présentant entre elles de larges lacunes.

Pour rendre plus facile l'examen des réactions, de l'acide cafétannique, les coupes ont été mises à macérer pendant quelques minutes dans l'acide acétique qui les décolore complètement en dissolvant la chlorophylle.

Nous avons choisi de préférence l'acide acétique parce qu'il ne dissout pas le tannin.

Bien qu'il influe légèrement sur la coloration obtenue par le réactif de Gardiner en la rendant plus pâle, il n'empêche pas la netteté des autres réactions. Aussi avons-nous pu conclure que l'acide cafétannique se trouve localisé dans les cellules du parenchyme foliaire. On ne le trouve nulle part ailleurs, c'est-à-dire ni dans les nervures, ni dans l'épiderme.

Quant à la caféine, ses réactions colorées sont gênées par la présence de la chlorophylle qui se dissout dans l'acide chlorhydrique. (On ne peut songer ici à se débarrasser au préalable de la chlorophylle, par un dissolvant quelconque, les dissolvants de celle-ci étant les mêmes que ceux de la caféine). Mais les cristaux qu'on obtient au moyen du chlorure d'or peuvent s'observer facilement et permettent de caractériser le principe actif dans les feuilles.

Nous avons ensuite étudié séparément les deux épidermes. L'épiderme supérieur a des cellules régulières et est dépourvu de stomates; l'épiderme inférieur, au contraire, est formé de

cellules très irrégulières, ondulées, et possède de nombreux stomates.

Ni l'un, ni l'autre ne contiennent de la caféine. Comme, d'autre part, nous n'en avons pas trouvé dans la tige, nous croyons pouvoir en induire que les nervures n'en renferment pas non plus et qu'en dernière analyse, par conséquent, le parenchyme des feuilles paraît être le siège de la caféine, comme celui de l'acide cafétannique.

Pour compléter nos résultats, nous avons dosé la caféine dans nos échantillons.

15 gram. de feuilles ont été traitées par la méthode qui nous a servi pour les tiges et nous ont, en premier lieu, donné de la caféine amorphe mélangée d'une petite quantité de matières grasses. Ce résidu a été repris par le chloroforme bouillant, puis par l'eau bouillante, et le liquide évaporé dans le vide a laissé 0<sup>gr</sup>,033 de caféine cristallisée, c'est-à-dire 0<sup>gr</sup>,22 de caféine pour 100 gram. de feuilles.

Les chiffres déjà indiqués par quelques auteurs relativement à la teneur en principe actif des feuilles de caféier diffèrent d'une façon très sensible, et l'accord ne paraît pas encore avoir été fait à ce sujet. Le chiffre auquel nous arrivons se rapprocherait cependant assez, comme on peut le voir, du nombre 0<sup>gr</sup>,18 % obtenu par M. Rigout, pharmacien à Vincennes <sup>1</sup>.

<sup>1</sup> Citons à ce propos. *Nature des principes contenus dans les feuilles de Caféier*, par M. Rigout, ancien interne des hôpitaux, pharmacien de 1<sup>re</sup> classe à Vincennes (Revue horticole de Paris. année 1887, pag. 474).

La caféine, principe actif du thé et du café, existe, ainsi qu'on le sait, en plus grande quantité dans les semences du Caféier que dans les feuilles de la même plante. Il n'en est pas de même pour les feuilles de Thé, qui sont, au contraire, plus riches en caféine que les autres parties de ce précieux végétal ; les feuilles de thé sont même plus riches en caféine que les graines de café.

Voici du reste les données résultant de nombreux dosages :

|                      |   |                     |
|----------------------|---|---------------------|
| Thé (feuilles).....  | 2 | de caféine pour 100 |
| Café (semences)..... | 1 | — — 100             |

EN RÉSUMÉ, pour ce qui concerne le siège de l'acide cafétannique et de la caféine dans le *Coffea arabica*. L, nous croyons pouvoir déduire de nos expériences les résultats suivants :

L'ACIDE CAFÉTANNIQUE se trouve dans tous les organes de la plante et à tous les âges.

La CAFÉINE n'existe ni dans le *péricarpe* du fruit, ni dans la *racine* et la *tige* de plantes cultivées en serre ;

La jeune plantule *non pourvue encore de chlorophylle* ne renferme pas davantage de caféine.

Les *feuilles*, par contre, en contiennent dans leur *mésophylle* ;

Dans la graine, elle existe dans l'*embryon*, tout aussi bien que dans l'*albumen*.

Les ouvrages de chimie indiquent bien la présence de la caféine dans les feuilles du caféier, mais non la proportion centésimale.

Il m'a donc paru intéressant de faire ce dosage. Voici les résultats auxquels je suis arrivé :

|                                                   |                      |
|---------------------------------------------------|----------------------|
| Poids des feuilles fraîches de café traitées..... | 22 gram.             |
| Poids de caféine obtenu.....                      | 0 <sup>gr</sup> ,04. |

ce qui donne 0<sup>gr</sup>,18 de caféine pour 100 gram. de feuilles.

## INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

---

- ATTFIELD. — Theingehalt der Kola-Nüsse, pag. 632.
- BERTHEMOT ET DECHASTELUS. — Journ. de Pharm., tom. XXVI, pag. 518.
- BERZÉLIUS. — Jahresbericht XVII (1838), pag. 302. — XVIII pag. 388.
- BRÉMER. — Les Tanneïdes (Bull. de la Soc. Histoire naturelle, Toulouse, janvier 1889).
- COMMAILLE. — Bull. de la Soc. de Chimie, 1876, pag. 261.
- CARLS JOBST. — Arch., 65 (1838), pag. 86.
- DOMERGUE ET NICOLAS. — Documents analytiques pour l'étude du thé et du café, 1891.
- DUMAS ET PELLETIER. — Ann. de Chim. et de Phys., (2), 1823, tom. XXIV, pag. 182.
- ERRERA. — Distinction micro-chimique des alcaloïdes et des matières protéïques.
- E. FISCHER. — Bericht über die Vorschritte der Chemie und verwandter Theile anderer Wissenschaften, 1882. Constitution des Caffein's, pag. 1087.
- FLUCKIGER. — Pharmacognosie des Pflanzenzeiches, pag. 647.
- GARDINER. — Proceed ol Cambridge, philosop. society 4. S. tom. VI, pag. 387.
- HANAUSECK (T.-F.). — Zur histochemischen caffenreaction. — Zeitsch.d. Allg. Oester. Apotheker. Vereins, 1891, pag. 606. — Ref. Bot. centralbl., 1891, Bd 48, pag. 284.
- HECKEL. — Des Kolas Africains, pag. 203. — C. R. Acad. des Scienc. tom. XCIV, pag. 802 (1882). Compos. de la noix de Kola.
- HERZOG. — Ann. der Chem. u. Pharm., tom. XXVI, pag. 344 et tom. XXIX, pag. 171. — Arch. für. Pharm.(2) tom. XV, pag. 86.
- HLASIWETZ. — Kaffegerbsäure. Sitzb. Ak. Weiss. Wien., LV, pag. 8. — Ann. der Chem. u. Pharm., tom. CXLII, pag. 219. —

- Nouvelle série, tom. LXVI. — Bull. de la Soc. de Chim., tom. IX, pag. 123, 1868.
- MARCHAND. — Recherch. organograph. et organogén. sur le café, 1864, pag. 6.
- MARTIUS. — Ann. der Chem. u. Pharm., 1840, tom. XXXVI, pag. 93.
- MOLISCH. — Gröndriss einer Histoeh der Pflanzenlichen Genussmittel, Iena, 1891.
- MULDER. — Arch., 65, 1838, pag. 77. — Poggend. Ann. tom. XLIII, pag. 160.
- NICHOLSON. — Ann. der Chem. u. Pharm., tom. LXII, pag. 171.
- ODRY. — Nouvelle biblioth. m<sup>ie</sup>, tom. I, pag. 477, 1827.
- PAYEN. — Mémoire sur le Café. — C. R. Acad. des Sc., tom. XXII, pag. 724 ; tom. XXIII, pag. 8 et 244. — Ann. de Ch. et de Phys., (3), XXVI, pag. 108.
- PELIGOT. — Ann. de Ch. et de Phys., (3), tom. XI, pag. 68 et 138.
- PFAFF ET LIEBIG. — Ann. de Ch. et de Phys., (1832), tom. XLIX, pag. 303. — Ann. der Chem. u. Pharm., 1832, tom. I, pag. 17.
- RAWSON. — Chemical neuster Schweizer Wochenschr. für Pharm., XXVII, 1889, pag. 216.
- ROCHLEDER. — Ann. der Chem. u. Pharm., tom. LXXI, pag. 1 et tom. LXXII, pag. 56 et 123. — Ann. der Chem. u. Pharm., tom. LXI, pag. 300 ; tom. LXIII, pag. 193. — Ap. Journal. Pharm. et Chim., (3), tom. X pag. 545. — Sitzb. Ak. Weiss. Wien, tom. II, pag. 93.
- ROCHLEDER ET HLASIWETZ. — Sitzb. Ak. Weiss. Wien, tom. V, pag. 6.
- RUNGE. — Mater. z. Phytologie, 1821, tom. I, pag. 146 (Kaffee).
- SACHS. — Vorlessungen über Pflanzen Physiologie, 1882, pag. 396.
- SCHARLING. — Botan. Zeitung, 1869, pag. 217.
- SEGUIN. — Mém. sur le café. Ann. de Chimie, tom. XCII, pag. 5.
- STENHOUSE. — Ann. der Chem. u. Pharm., tom. XLV, pag. 365 ; XLVI, pag. 227, (2), tom. III, pag. 244. — Ann. de Chim. et Physique, (3), 1854, tom. XLI, pag. 191.
- STRAUCH. — Viertelj. schr. für Pharm., tom. XVI, pag. 161.
- STRECKER. — Compte r. de l'Ac. des Sc., tom. LII., pag. 1208. — Ann. der Chem. u. Pharm., tom. CXVIII, pag. 151 (n<sup>ie</sup> série) tom. XLII. — Répertoire de Chimie pure (v. 5), tom. III,

pag. 340. — Ann. de Chimie et de Phys., (3), tom. LXII.  
pag. 355.

TANRET. — Bull. et Mém. de la Soc. de Thérap., 1882, pag. 254.

TIEMANN et NAGAJOSI-NAGAI. — Ber. d. Chem. Gesellsch., tom. XI,  
pag. 646, 177. — Deutsch. Chem. Gesellsch., pag. 651 et 656,  
1878. — Bull. de la Soc. de Chim., tom. XXXI, pag. 30.

Vu et permis d'imprimer :  
Montpellier, le 30 mai 1895.

*Le Recteur,*  
J. GERARD.

Vu :  
Montpellier, le 30 mai 1895.

*Le Directeur,*  
F. JEANJEAN.

---

